

柏 树 菌 中 提 取 粗 多 糖 的 研 究

于丽薇, 顾 红

(哈尔滨学院生命科学与化学学院, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘 要:探讨了热水浸提提取柏树菌粗多糖的实验流程及条件。经热水提取,Sevage 法去除蛋白质,乙醇沉淀等处理,得到多糖。从不同方面对柏树菌多糖的分离、纯化条件进行优化研究。通过单因子实验和正交实验进一步优化提取实验条件,在此条件下可得粗多糖 5% 左右。

关键词:柏树菌,粗多糖,萃取

Study on extraction of the crude polysaccharides form *Basidiomycetes*

YU Li-wei, GU Hong

(College of Life Science and Chemistry, Harbin College, Harbin 150086, China)

Abstract: The experimental processing and conditions of the hot water extraction crude polysaccharide from *Basidiomycetes* was mainly studied. After hot water extraction, removal protein in Sevage, ethanol precipitation, the polysaccharides were obtained. From the different aspects, the separation and purification conditions of the *Basidiomycetes* polysaccharides were studied. Through the monofactorial experiment and orthogonal experiment further optimize the extraction conditions, under these conditions, the availability of crude polysaccharide was around 5%.

Key words: *Basidiomycetes*; crude polysaccharides; extract

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)01-0219-02

柏树菌又名扁芝(*elfvingia*),是北方山区民间广泛应用的药用菌,是众多食用菌中的一种。食用菌是一大类有大型子实体的高等真菌,而其中含有的真菌多糖是一种非特异性免疫增强剂,可以通过多种途径提高机体的免疫功能,而对机体没有副作用。目前研究表明,此种物质具有广泛的用途。本文探讨了柏树菌的干燥子实体中粗多糖类的提取方法,拟采用不同的条件,进行不同提取实验参数的筛选,并用正交实验进行主次因素分析,以期筛选出柏树菌多糖提取的最佳实验条件。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柏树菌的干燥子实体 药店购买;所用试剂均为分析纯。

高效组织切碎机,离心机,真空干燥箱,搅拌器,恒温水浴锅,分析天平,过滤装置。

1.2 柏树菌的提取方法

1.2.1 沉淀剂的选择 将柏树菌的干燥子实体洗净,切成 0.2~0.4cm 宽的碎片后,在 60℃ 条件下干燥

至恒重,用开水提取 6h,将萃取物(G-A)过滤,然后在还原过程中加以浓缩;粗多糖片断(G-B)加入 5 倍体积的乙醇,使产生沉淀。为保证沉淀尽可能完全,分别用体积相同的 45%、55%、65%、75%、85%、95% 的乙醇-水溶液,在相同条件下加入,抽滤。实验结果如表 1。

表 1 沉淀剂浓度的选择

乙醇浓度(%)	45	55	65	75	85	95
沉淀产量(g)	3.5	3.8	4.3	5.3	5.5	5.6

结果表明,随着乙醇质量分数的加大,沉淀量增加,故选质量分数为 65% 以上的乙醇水溶液为沉淀剂。

1.2.2 提取工艺流程 柏树菌子实体 $\xrightarrow{\text{热水萃取 5h}}$ 过滤 (G-A) $\xrightarrow[\text{沉淀(离心法)}]{\text{浓缩加乙醇}}$ 沉淀(G-B) $\xrightarrow[\text{沉淀(pH=10)过滤}]{\text{加氢氧化钠}}$ 沉淀 $\xrightarrow[\text{离心法}]{\text{5\%醋酸液化}}$ 上层清液 $\xrightarrow[\text{离心法}]{\text{用乙醇沉淀}}$ 沉淀(G-D) $\xrightarrow[\text{离心法}]{\text{Sevage 法去蛋白}}$ 液相 $\xrightarrow[\text{离心法}]{\text{用乙醇沉淀}}$ 沉淀(G-F) $\xrightarrow[\text{脱色}]{\text{H}_2\text{O}_2}$ 白色粉末(G-Z)

1.3 柏树菌子实体萃取实验条件的优化

以碎片大小、萃取温度、萃取时间、pH 为因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验,根据正交实验结果确定提取柏树菌子实体的最佳实验条件。正交实验因素水平

收稿日期:2008-08-05

作者简介:于丽薇(1957-),女,副教授,研究方向:应用化学。

基金项目:黑龙江省教育厅 2004 年科学技术研究(指导)项目(10543067)。

表3 柏树菌干燥子实体破碎形式对提取量的影响

破碎形式	1cm 碎片	0.6cm 碎片	0.4cm 碎片	0.3cm 碎片	0.2cm 碎片	捣碎	糊状
萃取产量(g)	3.3	3.8	4.1	4.4	4.6	4.9	5.2

表4 温度对柏树菌子实体提取量的影响

萃取温度(℃)	60	70	80	90	100
萃取产量(g)	2.4	3.0	3.8	4.9	5.1
色泽	棕黄透明	浅棕透明	棕色混浊	深棕色混浊	褐色混浊

表5 萃取时间对柏树菌子实体提取量的影响

萃取时间(h)	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6	6.5
萃取产量(g)	2.3	2.8	3.1	3.7	4.5	4.8	4.9	5.0

见表2。

表2 因素水平表

水平	因素			
	A 碎片大小 (cm)	B 萃取温度 (℃)	C 萃取时间 (h)	D pH
1	0.2	85	5	9
2	0.3	90	5.5	10
3	0.4	95	6	11

2 结果与讨论

2.1 柏树菌子实体破碎形式对提取量的影响

称取一定量的柏树菌干燥子实体,用高效组织切碎机切成碎片,立刻用90℃的水提取6h左右,干燥子实体的不同破碎形式对萃取量的影响见表3。

破碎形式将会直接影响萃取量。从表3可见,随着子实体粒度的减小和破碎形式的改变,提取量逐渐增加。但由于柏树菌中的多糖存在于细胞壁中,粉碎处理子实体多糖得率大。较细的颗粒有利于多糖的浸出,增加扩散面积,使细胞壁破碎,有效成分易转入提取液中;但细小颗粒(糊状物)会使后续工艺更加繁杂,给后面的分离和过滤造成困难,使粗多糖溶液大量流失,造成多糖得率不高。因此粒度以0.2~0.4cm宽碎片为宜。

2.2 温度对柏树菌干燥子实体提取量的影响

将一定量切成0.2~0.4cm宽碎片的柏树菌子实体浸入到不同温度的水中,提取时间为6h左右,pH为10左右,不同萃取温度对萃取量的影响见表4。

从表4可见,随着萃取温度的提高,萃取产量也随之提高,符合扩散方程式。但考虑到较高的温度会对柏树菌子实体中的热不稳定性营养因子造成破坏,因此,萃取温度选择在90℃左右。

2.3 时间对柏树菌子实体提取量的影响

将一定量的切成0.2~0.4cm宽碎片的柏树菌子实体以90℃的水萃取不同时间,pH为10左右,不同萃取时间对萃取量的影响见表5。

提取过程中,粗多糖在不同时间的提取量是不相同的。从表5中可以看出,开始时,提取量较小,因为干燥的柏树菌子实体有一个吸水软化的过程,需要一段时间;软化后,提取量开始加大,这是因为开始时细胞内溶液与提取液中粗多糖的浓度差很大,扩散进行很快,单位时间内粗多糖提取量较多,但随着粗多糖浓度的降低,扩散速度减慢,粗多糖提取量也就随之减少。由此可见,提取时间不是越长

越好,时间过长,提取物不会增加,反而产品质量会下降。因此提取时间选择在5.5h左右为宜。

2.4 pH对柏树菌子实体提取量的影响

将一定量的切成0.2~0.4cm碎片的柏树菌子实体浸于90℃水中,提取时间为6h,酸碱性对柏树菌子实体提取量的影响见表6。

表6 pH对柏树菌子实体提取量的影响

pH	4	6	8	10	12
萃取产量(g)	3.1	3.5	4.3	4.8	4.5
色泽	浅棕	棕色	深棕色	褐色	深褐

由表6可看出,提取液为碱性时,提取效果较好。酸处理降低了多糖的含量;碱处理使多糖量增加,但在较强的碱性条件下,提取物的色泽逐渐加深,沉淀物逐渐增加。因此,萃取液的pH以10左右为宜。

2.5 萃取条件的优化

正交实验极差分析结果表明,各因素对柏树菌子实体的提取量都有显著的影响。四个因素对萃取量影响的主次顺序为:碎片大小>pH>萃取温度>萃取时间。以提取量为判定标准,通过正交实验得出提取柏树菌子实体的最优工艺条件为:碎片大小为0.3cm、提取温度90℃、提取时间5.5h、pH10,在此最优工艺条件下,提取产量可达到5.34g。

3 结论

通过实验得到的柏树菌干燥子实体提取粗多糖的较佳提取条件为:粒度为0.3cm碎片(切碎),提取温度90℃,提取时间5.5h,pH10左右。乙醇水溶液中应使用蒸馏水或去离子水,使用65%以上的乙醇水溶液为沉淀剂。在此条件下,可得粗多糖5%左右。

参考文献:

- [1]陈明. 真菌多糖抗肿瘤研究的进展[J]. 中国食用菌, 1993,15(6):41~42.
- [2]腾利荣. 生物学基础实验教程[M]. 吉林科学技术出版社,2000.
- [3]林玉满. 短裙竹荪菌丝体多糖Di-s2p提取及其性质[J]. 食用菌,2003(6):52~53.
- [4]陈国梁. 神奇的食用菌[M]. 中国轻工业出版社,1999.
- [5]高观世,郑跃玲,等. 影响金耳多糖提取因素的正交实验[J]. 中国食用菌,2000,20(4):41~43.